



## **EFFECTOS DE UNA DIETA OBESOGÉNICA SOBRE LAS ESTRUCTURA CRÁNEOFACIAL DE RATAS**

**Autores:** Daniela Botero González<sup>1</sup>, María Carolina Pustovrh Ramos<sup>2</sup>, Mario Alejandro Ortiz Salazar<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Odontóloga, Magister en Ciencias Biomédicas y Candidata a Doctorado en Ciencias Biomédicas.

Universidad del Valle. Valle del Cauca, Cali. Colombia.

### **RESUMEN**

**Objetivo:** Evaluar el efecto de la dieta obesogénica sobre la morfología craneofacial en ratas, durante la etapa de preadolescencia y adulto joven.

**Materiales y métodos:** Ratas Wistar macho de 21 días de edad, divididos en dos grupos de alimentación, dieta estándar (DE) y dieta de cafetería (DC). Los animales fueron caracterizados a través del peso, talla, circunferencia abdominal y glucemia. Llegado el punto final, se realizó disección para obtener muestras del cráneo y la mandíbula. Sobre las muestras, se realizó morfometría digital y cefalometría manual. **Resultados:** Los biomodelos adultos jóvenes del grupo DC presentaron peso ( $p \leq 0.01$ ), talla ( $p \leq 0.05$ ), circunferencia abdominal ( $p \leq 0.05$ ), grasa perigonadal ( $p \leq 0.005$ ) superior comparado con el grupo DE. En la mitad de la experimentación, se presentó un aumento de glucemia, que coincide con la etapa de maduración sexual. El grupo DC mostró mayor longitud nasal ( $p \leq 0.03$ ), longitud maxilar ( $p \leq 0.02$ ), longitud del hueso nasal ( $p \leq 0.02$ ) y menor ancho nasal ( $p = 0.0001$ ), e inclinación del incisivo inferior ( $p \leq 0.06$ ), comparadas con el grupo DE. Las muestras de ratas preadolescentes no presentan diferencias estadísticamente significativas, para los parámetros evaluados. **Conclusión:** Administrar una dieta obesogénica a las ratas, durante el estadio de desarrollo y crecimiento óseo, altera la morfología del complejo craneofacial.

### **INTRODUCCIÓN**

La epidemia mundial de sobrepeso y obesidad plantea una importante crisis de salud pública y clínica (1). Los datos más recientes de la Organización Mundial de



la Salud (OMS), muestran que un 13% del total de la población adulta es obesa y el 39% tiene sobrepeso. Las tendencias mundiales no son alentadoras para la población infantil y adolescente; unos cuarenta y un millones de niños menores de 5 años, y trescientos cuarenta millones de adolescentes entre 5 y 19 años, sufren de exceso de peso (2).

La obesidad tiene efectos muy conocidos a nivel sistémico como la hipertensión arterial, diabetes, accidentes cerebro vasculares, enfermedades digestivas, distintos tipos de cáncer, osteoporosis y osteoartritis (2). Otros efectos, menos investigados y poco conocidos, son el crecimiento de los maxilares, la caries y las enfermedades periodontales. Sobre los efectos a nivel del tejido óseo, la obesidad parece intervenir tanto en la osteoblastogénesis como en la osteoclastogénesis; en donde los niveles alterados de las hormonas leptina, adiponectina y algunas citoquinas, conducen a la disminución de la masa ósea (3). Se ha demostrado que individuos en etapa de adolescencia, presentan cambios morfológicos específicos como el aumento de la base de cráneo (4-7), la longitud de uno o ambos maxilares (4-9), la longitud del cuerpo mandibular (5) y la longitud del tercio medio facial (9).

Es por lo anterior, que el entendimiento de la obesidad y sus efectos sobre el desarrollo craneofacial, se convierte en un nuevo reto para la comunidad científica, ya que se presume, está implicada en el dismorfismo de las estructuras faciales afectando no solo el fenotipo final del rostro sino también la disposición ósea.

## **OBJETIVO**

El objetivo de este estudio fue evaluar la morfología craneofacial de la rata, en periodo preadolescente y adulto joven, sometidos a una dieta obesogénica.

## **MATERIALES Y METODOS**

Esta investigación contó con el aval del "Comité Institucional de Revisión de Ética con Animales de Experimentación" de la Universidad del Valle, código interno 013-017. Los biomodelos fueron mantenidos en el Laboratorio Intermedio de Investigación Preclínica y Bioterio, de la misma Universidad, la cual cumple con los requerimientos establecidos en las normas nacionales e internacionales.



*Modelo experimental:*

Diecinueve ratas (*Rattus norvegicus*, Berkenhout) cepa Wistar, macho de 21 días de edad, fueron destetadas y alojadas individualmente, con temperatura controlada ( $23\pm 1^\circ\text{C}$ ) y condiciones de luz-oscuridad controladas artificialmente.

Aleatoriamente se designaron once ratas como biomodelos controles sometidos a dieta estándar (DE), y ocho biomodelos experimentales sometidos a una dieta tipo cafetería con alto contenido de grasa y suplementada con dieta estándar (DC). Todos los biomodelos contaron con agua ad libitum.

La dieta estándar consistió en el suministro de pellets extrudizado (Purina, LabDiet 5010). La dieta de cafetería consistió en administrar diariamente tres alimentos seleccionados al azar, entre los que se encontraban: Brownie (3 tipos), torta (2 tipos), ponqué (7 tipos), palitos de maíz con sabor a queso, salchicha tipo Viena, aros de cereal, cereal de maíz inflado, extruido de maíz cubierto de caramelo, maíz gigante frito, rosquilla de almidón de yuca, bizcocho de achira y bread-stick. De ambas dietas se dispensó una ración en exceso. Protocolo modificado de Tejada et al en el 2016 (10).

Se registró semanalmente el peso, la talla (hocico a base de cola) y la circunferencia abdominal. Adicionalmente, se evaluó la glicemia al inicio, mitad y final de la experimentación. Para caracterizar los biomodelos, el punto final de los mismo, se estableció así: 3 neonatos de 21 días de edad (Todos grupo DE) sin intervención, 6 preadolescentes de 38 días de edad (3 grupo DE y 3 grupo DC) y 10 adultos jóvenes con 77 días de edad (5 grupo DE y 5 grupo DC).

Previa eutanasia, se obtuvo la grasa perigonadal y la cabeza de cada biomodelo. La masa grasa perigonadal fue pesada. A la cabeza, se retiró la piel, ojos, lengua y cerebro; se llevaron al horno a  $56^\circ\text{C}$  por 12 horas y posteriormente se colocaron con larvas de escarabajos de la familia Dermestidae (*Anthrenus verbasci*, coleoptera, Latreille) (11), donde después de aproximadamente 2 semanas, se obtuvieron los huesos del cráneo y la mandíbula, articulados.

*Parámetros morfológicos:*

Para cada muestra, se obtuvieron 4 imágenes digitales, en 3 vistas (Lateral, ventral y dorsal), con un estereomicroscopio (11) (MEIJI Techno, referencia RZT Stand), acoplado a una cámara (Infinity, referencia 3) y un software de adquisición de imágenes (Infinity versión 5.0.3.) (12, 13). Las imágenes se



procesaron en el software gratuito Image J (Natural Institutes of Health), la morfometría se basó en puntos y distancias morfométricas de los estudios de Lele et al en 1991 y Richtsmeier et al en el 2000, en la técnica morfométrica EDMA y otras utilizadas por Fernandes et al en el 2008, Yang et al en el 2011 y Hichijo et al en el 2014 (11, 12, 14-16). Todas las medidas se representan en milímetros (mm).

Para cada muestra también se obtuvo una radiografía, se utilizó un equipo de rayos X para radiografía humana (Gendex, referencia Gx-770) y películas periapicales digitales humanas (DIGORA, referencia Optime DXR-50 001). Se logró estabilidad de los huesos, un paralelómetro (DAC) y se fijó con cera. Para la cefalometría manual, se utilizaron puntos y distancias cefalométricas definidos por Engström et al en 1982 (17) y Abbassy et al en el 2008 (18), y ángulos cefalométricos definidos por Engström et al en 1982 (17). Las distancias medidas en mm y los ángulos en grados.

#### *Análisis estadístico:*

Los datos se expresan como media  $\pm$  desviación estándar. La significación estadística de las observaciones experimentales para los biomodelos adultos jóvenes se determinó mediante la prueba t de Student y el análisis de varianza bidireccional (ANOVA). El nivel de significancia se fijó en  $p \leq 0.05$ .

### **RESULTADOS**

Los animales del grupo DC presentaron peso, talla, circunferencia abdominal y grasa perigonadal, con un aumento significativo, y el porcentaje de aumento de peso fue superior, en comparación con los biomodelos del grupo DE.

Referente al peso, los animales del grupo DC comparado con el grupo DE, a partir de los 35 días de edad ( $p \leq 0.01$ ), y hasta los 77 días de edad (DC:  $299.5 \pm 11.4$  g vs DE:  $270.7 \pm 8.0$  g;  $p \leq 0.01$ ) mostraron mayor ganancia de peso. La talla también fue mayor en los animales del grupo DC a partir de los 28 días de edad comparado con DE ( $p \leq 0.05$ ); de manera interesante, las tallas de los biomodelos de ambos grupos fueron similares entre los 42 a los 49 días de edad, etapa que coincide con la maduración sexual. Sin embargo, desde el día 56 difieren en talla y para el día 77 de edad, se ve nuevamente un aumento de longitud corporal en el grupo DC comparado con el grupo DE (DC:  $20.7 \pm 0.4$  cm vs DE:  $19.2 \pm 0.5$  cm;  $p \leq 0.05$ ). Respecto a la circunferencia abdominal, se



evidenció que tanto los animales preadolescentes, como los adultos jóvenes del grupo DC, presentaron aumento de esta medida, frente a los biomodelos del grupo DE (DC:  $19.4 \pm 0.1$  cm vs DE:  $17.3 \pm 0.2$  cm;  $p \leq 0.05$ ); solo sin significancia estadística, para el día 56 de vida. La grasa perigonadal, presentó valores similares en ambos grupos para el día 38 de vida (DC:  $0,5 \pm 0,1$  g. vs DE:  $0,6 \pm 0,4$  g), pero esta grasa fue significativamente mayor en el grupo DC para el día 77 de vida (DC:  $6.4 \pm 0.9$  g vs DE:  $3.6 \pm 0.6$  g;  $p \leq 0.005$ ).

Los biomodelos presentaron valores de glucemia, previo ayuno de 8 horas; neonatos de 21 días de edad (DE:  $106,7 \pm 17,7$  mg/dL), preadolescentes de 38 días de edad (DE:  $108 \pm 23,6$  mg/dL vs DC:  $98,7 \pm 5,1$  mg/dL), adultos jóvenes en la mitad de la experimentación de 49 días de edad (DE:  $104,8 \pm 9,4$  mg/dL vs DC:  $140,8 \pm 12,6$  mg/dL), y al final con 77 días de edad (DE:  $91,2 \pm 4,9$  mg/dL vs DC:  $102,6 \pm 5,1$  mg/dL).

La morfometría mostró que los biomodelos adultos jóvenes DC, presentaron mayor longitud nasal (DC:  $18.0 \pm 0.3$  mm vs DE:  $17.4 \pm 0.4$  mm;  $p \leq 0.03$ ), menor ancho nasal (DC:  $5.1 \pm 0.1$  mm vs DE:  $6.1 \pm 0.3$  mm;  $p = 0.0001$ ) y mayor longitud maxilar (DC:  $22.4 \pm 0.3$  mm vs DE:  $21.9 \pm 0.2$  mm;  $p \leq 0.02$ ). La cefalometría indicó que el grupo DC, presentó mayor longitud del hueso nasal (DE:  $18.2 \pm 0.3$  mm vs DC:  $18.8 \pm 0.3$  mm;  $p \leq 0.02$ ) y menor inclinación del incisivo inferior (DE:  $13.8 \pm 2.2$  grados vs. DC:  $16.1 \pm 1$  grados;  $p = 0.06$ ) aumentadas. Las muestras de preadolescentes de los grupos DE y DC no presentan diferencias estadísticamente significativas, para los parámetros evaluados.

## **DISCUSIÓN**

Una creciente epidemia mundial de sobrepeso y obesidad, la globesidad (19), es cada vez más evidente en las diferentes poblaciones del mundo. Específicamente la obesidad en la población en desarrollo es uno de los problemas de salud pública más graves del siglo XXI. La OMS estipula que los niños con exceso de peso tienden a seguir siendo obesos en la edad adulta y tienen más probabilidades de padecer a edades tempranas, enfermedades no transmisibles; todas estas prevenibles (20). El impacto que la globalización y la rápida transición socioeconómica tienen en la nutrición nos hace sospechar que el



exceso de peso, alcanzará en pocos años, efectos morfológicos fácilmente identificables en el componente óseo de la población.

Las ratas Wistar macho adulto joven, por medio del modelo de alimentación brindado durante 8 semanas (56 días) denominada dieta de cafetería, generaron obesidad. Lo que concuerda con el estudio realizado por Buyukdere et al, en el 2019, donde se afirman que las ratas alimentadas con dieta tipo cafetería, durante 12 semanas, tuvieron aumento de peso significativamente mayor en comparación con las alimentadas con dieta alta en grasa (21).

Además, esta dieta generó en los biomodelos adultos jóvenes, un panículo perigonadal significativamente mayor que el de los biomodelos alimentados con dieta estándar. Lo que también concuerda con los datos del estudio de Buyukdere et al, en el cual la dieta generó una adiposidad pronunciada en los depósitos de grasa peri-renal y epididimales. Demostrando así, que la dieta tipo cafetería, desencadenó hiperfagia persistente y un mayor consumo de energía como resultado de la diversidad y la novedad de los alimentos presentados. De hecho, durante todo el período de estudio, el grupo alimentado con dieta de cafetería mostró una ingesta continua de energía y alimentos más alta (21).

Las mediciones realizadas en este estudio fueron lineales. Estas mediciones son bidimensionales y en la mayoría de casos pueden no proporcionar información suficiente para los clínicos o investigadores. De hecho, se conoce que las imágenes bidimensionales tienen desventajas como la superposición o la falta de definición de estructuras anatómicas importantes (22). No obstante, se conoce tecnología que proporcionaría mediciones volumétricas (Tomografía computarizada Cone Beam y la microtomografía 3D) adquiriendo imágenes tridimensionales (22).

Aunque se pretende utilizar mediciones volumétricas en futuras investigaciones, es de nuestro conocimiento que, en la consulta odontológica, en específico la de odontopediatría y ortodoncia; se adquieren fotografías y radiografías del paciente, en donde en estas últimas, se realizan mediciones lineales brindando una información invaluable para el profesional.

Existen seis estudios de casos y controles, en donde adolescentes humanos con obesidad, versus sus homólogos normopeso, muestran cambios morfológicos en el componente óseo craneofacial. El estudio de Ohrn et al, Sadeghianrizi et al,



Lee et al, y Giuca et al, mostraron que los adolescentes obesos presentaron un aumento significativo en la longitud de la base anterior del cráneo, evaluado por medio de la distancia entre los puntos silla y nasion (5, 7, 8). Los biomodelos obesos adultos jóvenes de este estudio, siguen esta tendencia. Esto sugiere que la obesidad en los biomodelos adultos jóvenes incrementa la base craneal y el desarrollo de una mayor altura facial.

Respecto a la estructura nasal, la presente investigación, por medio de morfometría, mostró que la dieta obesogénica influyó en que los biomodelos adultos jóvenes presenten una estrecha estructura nasal. Y por medio de la cefalometría, se registró una mayor altura de esta estructura. Este componente no fue evaluado en los estudios de humanos. Sin embargo, estos cambios pueden tener una relación directa con la disminución del ingreso de aire. Así, Lee et al, presenta adolescentes con apnea obstructiva del sueño (6), la cual se conoce que podría estar relacionada con cambios craneofaciales (23).

Los biomodelos adultos jóvenes obesos también presentaron un maxilar ligeramente alargado. Referente a la mandíbula, el estudio de Ferrario et al, muestra a través de antropometría, como los adolescentes obesos Italianos presentaron un aumento en la longitud del cuerpo mandibular medida desde los puntos de tejidos blandos pogonion a gonion (4). Los biomodelos alimentados con dieta obesogénica adultos jóvenes de este estudio, siguen esta tendencia, pero evaluada a nivel del tejido óseo. En relación con la longitud del cuerpo mandibular posterior, nuevamente valorada desde el punto gonion a pogonion, se presenta aumentada en adolescentes obesos Suecos y Polacos, en los estudios de Sadeghianrizi et al, y Olszewska (5, 9). Los biomodelos obesos adultos jóvenes de este estudio, persiguen esta tendencia. Lo anterior sugiere que la dieta obesogénica influyó en estos biomodelos, presenten un cuerpo mandibular más largo y que, además, los incisivos inferiores incrementaran su inclinación para generar la posibilidad de roer. Otra dimensión valorada en mandíbula fue la longitud mandibular total, la cual se mide entre los puntos cefalométricos condilion y prognation, en el estudio de Ohrn et al y Sadeghianrizi et al, los puntos condilion y gnation en el estudio de Olszewska, y los puntos gonion y menton en el estudio de Lee et al (5, 6, 8, 9). Todos estos estudios



muestran un incremento en esta longitud, diferente a esta investigación, en donde no se observa esta tendencia.

Contrario a lo que ocurre con los adolescentes obesos de los estudios anteriores y los biomodelos adultos jóvenes obesos de la presente investigación; en el estudio de Fernandes et al, se evaluaron por medio de morfometría, cráneos y mandíbulas de rata Wistar en situación de desnutrición por restricción de proteína y energía, sin discriminación de sexo. En estos biomodelos se observó una disminución en todas las dimensiones evaluadas en sus huesos (12). Lo anterior indica, que tanto la disminución, como el exceso de peso, presentan vías de señalización diferentes, que definitivamente, influyen y determinan el desarrollo de la constitución ósea del cráneo y la mandíbula.

### **CONCLUSIÓN**

Estos resultados sugieren que administrar una dieta obesogénica a las ratas, durante el estadio de desarrollo y crecimiento óseo, altera la morfología del complejo craneofacial.

Los autores certifican la autenticidad de la autoría declarada, así como la originalidad del texto.

### **BIBLIOGRAFÍA**

1. Mitchell S, Shaw D. The worldwide epidemic of female obesity. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2015;29(3):289-99.
2. World-Health-Organization. Obesity and overweight: Descriptive note N°311 2016. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/es/>. Accessed February 25, 2020
3. Cao J. Effects of obesity on bone metabolism. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research* 2011;6(1):30.
4. Ferrario V, Dellavia C, Tartaglia G, Turci M, Sforza C. Soft tissue facial morphology in obese adolescents: A three-dimensional noninvasive assessment. *Angle Orthodontist* 2004;74(1):37-42.
5. Sadeghianrizi A, Forsberg C, Marcus C, Dahllöf G. Craniofacial development in obese adolescents. *The European Journal of Orthodontics* 2005;27(6):550-55.



6. Lee R, Vasudavan S, Hui D. Differences in craniofacial structures and obesity in Caucasian and Chinese patients with obstructive sleep apnea. *Bmj* 2010; 33(8):[1075-80pp.].
7. Giuca M, Giannotti L, Saggese R, Vanni A, Pasini M. Evaluation of cephalometric, hormonal and enzymatic parameters in young obese subjects. *European Journal of Paediatric Dentistry* 2013;14(3):175-80.
8. Ohrn K, Al-Kahlili B, Huggare J, Forsberg C, Marcus C, Dahllof G. Craniofacial morphology in obese adolescents. *Acta Odontol Scand* 2002;60(4):193-97.
9. Olszewska K. Craniofacial morphology in overweight and obese orthodontic adolescent patients 2017; 11(1):[42-5pp.].
10. Tejada M, Pustovrh M, Ortiz M. Efectos de la obesidad materna sobre el patrón de apoptosis en la cardiogénesis tardía de la rata Wistar: Universidad del Valle; 2016.
11. Richtsmeier J, Baxter L, Reeves R. Parallels of craniofacial maldevelopment in Down syndrome and Ts65Dn mice. *Dev Dyn* 2000;217(2):137-45.
12. Fernandes R, Abreu A, Silva R, Silva D, Martinez G, Babinski M, et al. Maternal malnutrition during lactation reduces skull growth in weaned rat pups: experimental and morphometric investigation. *Anat Sci Int* 2008;83(3):123-30.
13. Yang B, Tian C, Zhang Z, Han F, Azem R, Yu H, et al. Sh3pxd2b mice are a model for craniofacial dysmorphology and otitis media. *PLoS One* 2011;6(7):e22622.
14. Lele S, Richtsmeier J. Euclidean distance matrix analysis: a coordinate-free approach for comparing biological shapes using landmark data. *Am J Phys Anthropol* 1991;86(3):415-27.
15. Yang B, Tian C, Zhang Z, Han F, Azem R, Yu H. Sh3pxd2b Mice Are a Model for Craniofacial Dysmorphology and Otitis Media. *PLoS ONE* 2011;6(7): e22622.
16. Hichijo N, Kawai N, Mori H, Sano R, Ohnuki Y, Okumura S, et al. Effects of the masticatory demand on the rat mandibular development. *J Oral Rehabil* 2014;41(8):581-7.



17. Engstrom C, Linde A, Thilander B. Craniofacial morphology and growth in the rat. Cephalometric analysis of the effects of a low calcium and vitamin D-deficient diet. *J Anat* 1982;134(Pt 2):299-314.
18. Abbassy M, Watari I, Soma K. Effect of experimental diabetes on craniofacial growth in rats. *Arch Oral Biol* 2008;53(9):819-25.
19. World-Health-Organization. Controlling the global obesity epidemic 2019. <https://www.who.int/nutrition/topics/obesity/en/>. Accessed February 25, 2020
20. World-Health-Organization. Global Strategy on Diet, Physical Activity and Health 2019. <https://www.who.int/dietphysicalactivity/childhood/en/>. Accessed February 25, 2020
21. Buyukdere Y, Gulec A, Akyol A. Cafeteria diet increased adiposity in comparison to high fat diet in young male rats. *PeerJ* 2019;7e6656.
22. Mangione F, Meleo D, Talocco M, Pecci R, Pacifici L, Bedini R. Comparative evaluation of the accuracy of linear measurements between cone beam computed tomography and 3D microtomography. *Ann Ist Super Sanità* 2013;49(3):261-65.
23. Wong M, Sandham A, Ang P, Wong D, Tan W, Huggare J. Craniofacial morphology, head posture, and nasal respiratory resistance in obstructive sleep apnoea: an inter-ethnic comparison. *European Journal of Orthodontics* 2005;27(1):91-7.
24. Sengupta P. The Laboratory Rat: Relating Its Age With Human's. *Int J Prev Med* 2013;4(6):624-30.